

¿El huanglongbing va a destruir la citricultura mediterránea?

Joseph Marie Bové (Profesor emérito de microbiología. Universidad de Burdeos & INRA).
Núria Duran-Vila (Profesor honorario de investigación, IVIA & INIA).

Desde 2006, hemos llamado varias veces la atención acerca del peligro que supone el huanglongbing (HLB), no solo para la citricultura española sino para la de toda la región europea y mediterránea (Bové, 2015; Bové y col., 2006; Duran-Vila y Bové, 2013, 2015b; Duran-Vila y col., 2009, 2014; López y col., 2015). El HLB o "enfermedad del brote amarillo" es la enfermedad más devastadora de los cítricos (Bové, 2006). El HLB se transmite por unas psilas que actúan como vectores muy eficientes, por lo que la difusión de la enfermedad puede ser muy rápida después de su introducción en una zona cítrica determinada. Por ejemplo, el HLB no se conoció en el continente americano hasta principios del siglo XX. En 2004, se describió por primera vez en América, concretamente en el estado de São Paulo (Brasil). En 2015, muchos países de Sudamérica, Centroamérica y Norteamérica se encuentran ya afectados por esta enfermedad y su vector, la psila asiática *Diaphorina citri*. En Florida, el vector se descubrió por primera vez en 1998 y los síntomas de la enfermedad en 2005. La enfermedad no se pudo controlar y hoy día, probablemente casi el 100% de los árboles estén infectados, lo que significa que prácticamente toda la producción cítrica de Florida ha quedado seriamente cuestionada en sólo unos pocos años. Sin embargo, en el estado de São Paulo (São Paulo State, SPS), la enfermedad ha podido controlarse mediante el manejo adecuado de las plantaciones, lo cual ha sido posible gracias a las características de su industria cítrica. Ello ha supuesto que 200.000 hectáreas tengan menos de un 1% de árboles afectados, en otras palabras, más del 99% de árboles sanos.

¿Desde Noviembre de 2015, existen sospechas acerca de la presencia de la enfermedad en el Algarve (Portugal)! Este sería el primer informe sobre la presencia de HLB en Europa. ¿Nos preguntamos si la situación evolucionará como en Florida, como en Brasil, o de una forma intermedia?

La psila africana, *Trioza erytreae*, vector del HLB, en Madeira (Portugal) y Canarias (España)

Hasta hace relativamente poco, sólo dos zonas cítricas del mundo se hallaban libres del HLB y sus vectores: Australia y la cuenca del Mediterráneo. ¡Sin embargo, en ambos casos las psilas que actúan como vectores no se hallaban muy lejos! La psila asiática *D. citri* (García Marí, 2015) se encontraba ya en el norte de Australia: en las islas de Timor y Nueva Guinea. Al oeste de la cuenca Mediterránea, en el océano Atlántico, Madeira (Portugal) y Canarias (España) se encuentran seriamente afectadas por la psila africana *Trioza erytreae* (García Marí, 2015): Madeira desde 1994

y Canarias desde 2002. El peligro para Australia parece mayor ya que Timor y Nueva Guinea no sólo tienen el vector sino también la enfermedad, mientras que en Madeira y Canarias se encuentra el vector, pero hasta el momento la enfermedad no ha sido identificada.

La psila africana, *Trioza erytreae*, vector del HLB, en Galicia y norte de Portugal

Desafortunadamente, en Europa y en la cuenca del Mediterráneo la situación ha empeorado ya que en 2014 se ha identificado *T. erytreae* en la península Ibérica: en Galicia (España) (Pérez-Otero y col., 2015). Es la primera vez que un vector del HLB ha sido identificado en Europa. *T. erytreae* es la

psila africana que se encuentra en Sudáfrica desde 1897, y de hecho, es la responsable de la difusión del HLB en todo el continente africano. *T. erytreae* es sensible a temperaturas elevadas (32°C o más elevadas) y sobretodo en combinación con humedades relativamente bajas (25% o más bajas) (Van der Merwe, 1941; Catling, 1969).

Galicia y en especial su costa oeste tiene un clima adecuado para el desarrollo de la psila africana. *D. citri*, la psila asiática que es responsable de la transmisión del HLB en toda Asia, es más tolerante al calor que su homóloga africana. La presencia de *T. erytreae* es fácil de identificar porque sus ninfas se desarrollan en el envés de las hojas donde producen "nidos" cóncavos que se corresponden con protuberancias "convexas" en el haz de la hoja (Figuras 1, 2 y 3): ¡Cada nido se



Figura 1. Las ninfas de *Trioza erytreae*, la psila "Africana" que actúa como vector del huanglongbing, se desarrollan en el envés de las hojas de cítricos en las que quedan sumergidas en "nidos" cóncavos. Cada "nido" cóncavo del envés de la hoja, se corresponde con una "protuberancia" convexa en el haz. Estas protuberancias son características de *Trioza erytreae*: en el caso de *Diaphorina citri*, la psila "Asiática" del huanglongbing, no hay protuberancias ni nidos en las hojas.



Figura 3. Haz (A) y envés (B) de dos hojas de limonero (1, 2), que muestran la correlación entre los nidos y las protuberancias causadas por *Trioza erytreae*. En la hoja 1, el rectángulo blanco del haz A muestra las 6 protuberancias que se corresponden con los 6 nidos que del rectángulo blanco del envés B. Se puede observar una correlación similar en la hoja 2.

corresponde con una protuberancia! Las presencia de estas protuberancias en hojas de cítricos es característica de *T. erytreae* ya que las ninfas de *D. citri* no las producen. Las ninfas en desarrollo pueden verse fácilmente en sus nidos pero cuando alcanzan el estado adulto, abandonan estos nidos que pueden observarse como depresiones cóncavas vacías. Incluso los nidos/protuberancias vacías constituyen una prueba para el diagnóstico de *T. erytreae*. Las ninfas en sus nidos así como

los nidos vacíos se han utilizado como evidencias de la presencia en *T. erytreae* en muchas regiones de África así como en las islas cercanas del océano Índico y en la península arábiga (Bové, 2014). Mas recientemente, en agosto/septiembre de 2015 (Duran-Vila y Bové, 2015), hemos realizado prospecciones en la costa norte de la península Ibérica (Euskadi, Cantabria, Asturias, Galicia) así como en la costa oeste (Galicia y norte de Portugal) (Figura 4). Estas zonas no son productoras comerciales de



Figura 2. En estas dos hojas, A y B, se han desarrollado muchas ninfas. Cada hoja tiene protuberancias solamente en el haz y nidos solamente en el envés. En la izquierda se muestra el haz de la hoja A con protuberancias, y a la derecha se muestra el envés de la hoja B con los nidos.



Figura 4. *Trioza erytreae* en Galicia (España) y en el norte de Portugal. En 2014, se detectó la psila a lo largo de las rías de Arousa, Pontevedra y Vigo, en Galicia, y cerca de Oporto en Portugal (Pérez-Otero y col., 2015). En 2015 (Duran-Vila & Bové, 2015), también detectaron la psila (i) al norte de Arousa, a lo largo de la ría de Muros y Noia, hasta Finisterre, y también (ii) al sur de Vigo, a lo largo del río Miño (la frontera entre el Galicia y el Norte de Portugal), y mas hacia el Sur hasta Ancora, en Portugal.

cítricos pero tienen muchos cítricos en huertos y jardines, sobretudo limoneros, pero también naranjos, naranjos amargos y mandarinos. En las figuras de este artículo, el tipo árbol examinado en cada localidad viene indicado como *Le* (limonero), *Sw* (naranja dulce), *Sr* (naranja amargo) o *Md* (mandarino), seguido del nombre de la localidad (por ejemplo, FINISTERRE: *Le*).

En la costa Norte de España no encontramos evidencias de la presencia de *T. erytreae*, ni siquiera

En agosto de 2015, se encontraron evidencias de la presencia de *Trioza erytreae* mas al norte, en Finisterre (Duran-Vila & Bové, 2015).



Figura 5. En Agosto de 2015, se identificaron árboles con las protuberancias características de *Trioza erytreae* mas al Norte, en Finisterre y Lira. En 2014, todavía no se había identificado la psila en estas localidades.

En agosto de 2015, no se detectó *Trioza erytreae* al norte de Finisterre (Duran-Vila & Bové, 2015)



Figura 6. No se detectó *Trioza erytreae* en los lugares inspeccionados al norte de Finisterre.

Trioza erytreae en la ria de MUROS y NOIA (Duran-Vila & Bové, 2015).



Figura 7. Presencia de *Trioza erytreae* en las rías de Muros y Noia, en agosto de 2015; la psila no se había identificado en 2014.

Trioza erytreae al norte y al sur del río Miño.



Figura 8. *Trioza erytreae* al norte y al sur del río Miño, la frontera entre Galicia (España) y el norte de Portugal. En Galicia, se detectó la psila en varias localidades, entre la ría de Vigo y el río Miño. En Portugal, la psila se hallaba presente a lo largo de la costa sur del río Miño y a lo largo de la costa atlántica hasta Ancora, donde se encontraban afectados no solo limoneros sino también naranjos y mandarinos.

en Novalles (Cantabria), la única zona con plantaciones comerciales de limonero. En su prospección realizada en 2014, Pérez-Otero y col. (2015) encontraron *T. erytreae* en las rías de Arousa, Pontevedra y Vigo. Hemos confirmado estos importantes resultados y además hemos constatado que en solo un año, desde agosto 2014, *T. erytreae* se ha difundido hacia el Norte y también hacia el Sur (Figuras 5 y 6). Hacia el Norte, la psila africana se encuentra ahora en las rías de Muros y Noia (Figura 7), e incluso mas al norte, encontramos la psila en Lira y Finisterre (Figura 5). Sin embargo, no se encontró ninguna evidencia de su presencia ni en Ponteceso

ni en Ribadea (Figura 4). Los lugares con la presencia del insecto se encontraban esencialmente cerca de la costa. Zonas del interior, como Estrada, eran negativas (Figura 4).

Al sur de la ría de Vigo, con Baiona en la ribera sur (Figura 8), se encontró *T. erytreae* a lo largo de toda la costa oeste de Galicia, en Oia y Sanxian (Figura 8) así como en A Guarda situada en la ribera norte del Miño, el río que separa Galicia (España) y el norte de Portugal (Figura 8). Al sur, en la ribera portuguesa del Miño, *T. erytreae* se hallaba presente en Andurinho, Caminha y Seixas, pero no parecía estar presente río arriba, en Lanelas, Vila Nova de

Cerveira y Reboreida (Figura 8). Finalmente, al sur del río Miño, a lo largo de la costa portuguesa, se encontró la psila en Ancora, pero no mas al sur en Apulia, Crias, Estela, Agucadoura, A Ver-O Mar o Arvore. Sin embargo, uno de los autores de Pérez-Otero y col. (2015), localizó un limonero positivo en los alrededores de la ciudad de Oporto en 2014. Por tanto, el informe Pérez-Otero y col. de 2015 y nuestros resultados muestran que efectivamente, *T. erytreae* se encuentra presente no sólo en el suroeste de Galicia sino también en el norte de Portugal.

En áreas en las que *T. erytreae* se encuentra ya bien establecida, como es el caso de la ría de



Figura 9. RÍA de AROUSA. Las numerosas protuberancias en muchas hojas de limonero indican que *Trioza erytreae* se encuentra bien asentada.



Figura 11. RÍA de VIGO. Brotes terminales de limonero muy afectados en Cangas.



Figura 10. RÍA de PONTEVEDRA. Las abundantes protuberancias en estos brotes terminales de limonero demuestran que la psila se encuentra bien asentada.



Figura 12. RÍA de AROUSA, Vilaxoan. Presencia de protuberancias típicas de *Trioza* en hojas maduras correspondientes a brotaciones anteriores. Estas protuberancias se desarrollaron cuando las hojas formaban parte de brotes jóvenes terminales.

Arousa donde se identificó la psila por primera vez en 2014 (Pérez-Otero y col., 2015), las hojas de los árboles afectados presentan muchas protuberancias (Figuras 9, 10 y 11), no solo en los brotes jóvenes terminales, sino también en las hojas de brotaciones anteriores (Figura 12). En lugares en los que la psila ha llegado recientemente, como es probablemente el caso de Finisterre, solo se encuentra un pequeño número de nidos/protuberancias en unas pocas hojas (Figuras 13 y 14).

Se podían ver nidos/protuberancias no solo en

las hojas de limonero, ya que los limoneros son los cítricos más numerosos en la zona, sino también en hojas de naranjo, naranjo amargo y mandarino (Figuras 13 y 14).

Hasta el momento no se han observado síntomas de HLB en las zonas donde se encuentra *Trioza*. La búsqueda de dichos síntomas debe proseguir ya que es posible que sea necesario un cierto tiempo para la manifestación de síntomas de HLB, sobretodo teniendo en cuenta que la presencia de *Trioza* en Galicia parece ser muy

reciente. El control biológico con ectoparásitos de las psilas, como *Tamarixia dryi* que actúa contra *T. erytreae*, conlleva una disminución de la población de psilas, pero no lo suficiente como para evitar la difusión del HLB. Si se utiliza el control biológico, no se darán efectos negativos, ya que se observarán menos protuberancias en los árboles de los jardines, pero no será de gran ayuda para prevenir la difusión del HLB. ¡Hay que recordar que un insecto puede tener dos funciones! Como una plaga, en la que se precisan



Figura 13. FINISTERRE: Límite norte de *Trioza erytreae*. Envés de hojas de limonero con solo unos pocos nidos de *Trioza*.



Figura 14. FINISTERRE: Límite norte de *Trioza erytreae*. Haz de hojas de limonero con solo unas pocas protuberancias típicas de *Trioza* (Las hojas de las Figuras 13 y 14 son las mismas).



Figura 15. Protuberancias y nidos de *Trioza erytreae* en las hojas de brotes terminales de un naranjo en Cangas y Moaña (Galicia), y de un mandarino en Andurinho (Portugal).

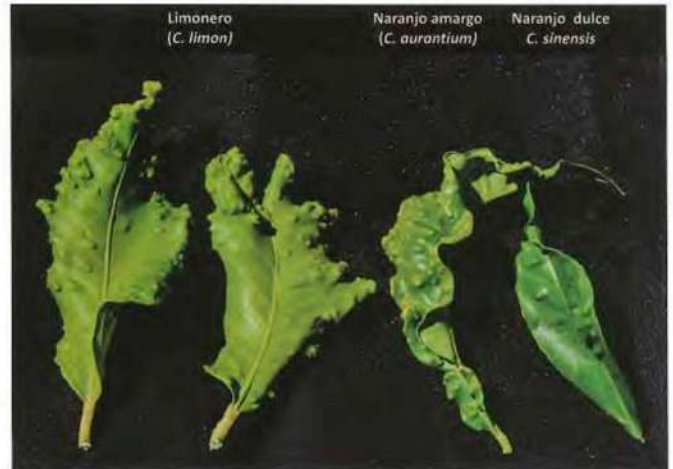


Figure 16. Protuberancias causadas por *Trioza erytreae* en hojas de limonero, naranjo amargo y naranjo dulce de la ría de Arousa. A pesar de que el limonero es el hospedador preferido de *Trioza erytreae*, los naranjos amargos, los naranjos dulces y los mandarinos también se encuentran afectados en esta zona (Ver también la Figura 15).



Figura 17. Síntomas de moteado en hojas de naranjo (Sudáfrica). Estos síntomas son característicos de huanglongbing en todo el mundo, aunque no son específicos de la enfermedad. En lugar de presentar un color verde oscuro uniforme, las hojas muestran un moteado característico con varias tonalidades de verde y amarillo. Estas coloraciones no se encuentran separadas por bordes bien definidos, sino que se entremezclan entre sí. A diferencia del moteado causado por deficiencias en zinc, el perfil que muestran las distintas tonalidades en las hojas de árboles afectados de HLB, no es simétrico respecto al nervio central (Ver Figura 18).

cientos de insectos para causar daños en un solo árbol! ¡Como un vector, en que un solo individuo puede infectar varios árboles seguidos!

Liberibacters, las bacterias patógenas del HLB. Fitoplasmas

En general, se sospecha la presencia de HLB por síntomas tales como (i) moteado de las hojas (Figura 17) asociado o no con hojas que presentan síntomas de deficiencia en zinc (Figura 18), y (ii) inversión del color en frutos asimétricos (Figura 19) que al cortarlos por la mitad muestran haces vaso-

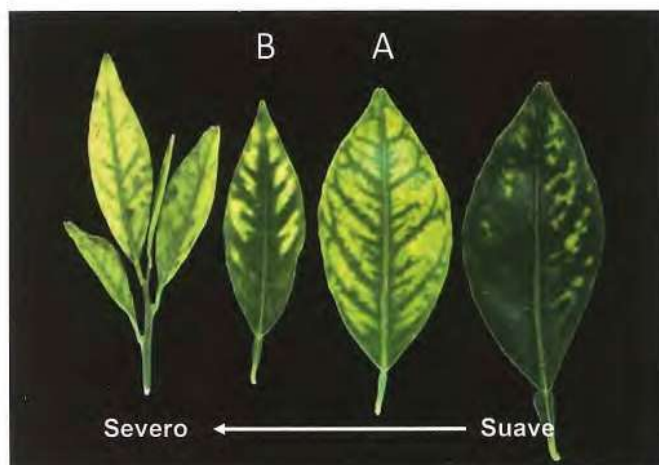


Figura 18. Rango de síntomas de deficiencia en zinc. Las venas laterales verdes de la hoja A y el moteado amarillo de la hoja B muestran una cierta simetría respecto al nervio central. No se observa este tipo de simetría en el caso del moteado causado por HLB (Ver figura 17).



Figura 20. Además de la inversión de color, los frutos afectados de HLB son asimétricos (falta de simetría respecto al eje central del fruto) y, cuando éste se parte a lo largo del eje, se observan semillas de color pardo y los haces vasculares de dicho eje presentan una coloración pardo/anaranjada.



Figura 19. En el proceso de maduración de frutos en árboles sanos, la zona estilar del fruto es inicialmente de color naranja, mientras que la zona peduncular sigue siendo de color verde. En el caso de frutos de árboles afectados de HLB, la situación es justo la inversa: hay una inversión del color, con la zona peduncular que inicialmente es de color naranja mientras que la zona estilar se mantiene de color verde.

lares de color naranja y semillas abortadas de color pardo oscuro (Figura 20). A continuación deben analizarse las venas centrales de las hojas mediante la técnica de Reacción de la Polimerasa en Cadena (Polymerase Chain Reaction, PCR) para confirmar la presencia de alguna de las tres bacterias causantes del HLB (Bové, 2006). Se recomienda utilizar la técnica más sensible, es decir la PCR a tiempo real (Bertolini y col., 2014; Carralero y col., 2015; López y col., 2015). Estas bacterias pertenecen al género "Liberibacter", lo que indica que en las

plantas afectadas, se encuentran exclusivamente en los vasos del floema. En Asia, donde la enfermedad se encuentra presente al menos desde 1927, la especie de *Liberibacter* responsable de la enfermedad es *Candidatus Liberibacter asiaticus* (Las). El prefijo "*Candidatus*" indica que la bacteria no se ha podido cultivar y su posición taxonómica se ha definido mediante técnicas moleculares basadas en el análisis del DNA (Jagoueix y col., 1994). En África, donde los primeros

síntomas se observaron en 1928 en Sudáfrica, el patógeno causante del HLB es *Candidatus Liberibacter africanus* (Laf). En América, el HLB fue descrito por primera vez en 2004 en el estado de São Paulo (São Paulo State, SPS) donde se identificaron dos liberibacters: el liberibacter asiático (Las), presente en unos pocos árboles, y un nuevo liberibacter, *Candidatus Liberibacter americanus* (Lam), presente en la mayoría de árboles (Texeira y col., 2005). Desde 2005, la proporción de estos dos liberibacters se ha invertido a favor de Las,

que es el que generalmente domina, mientras que Lam se detecta solo en unos pocos árboles (Lopes y col., 2009a; 2009b). En 2005, Las se detectó en Florida, y en 2015 se ha identificado como "el" liberibacter presente en Sudamérica, Centroamérica y Norteamérica.

Para ser exhaustivos, hay que mencionar que los síntomas característicos del HLB, el moteado de las hojas y la inversión del color de los frutos (ver mas arriba), pueden ser causados en naranjo por "fitoplasmas". Mientras que los liberibacters tienen la pared celular del tipo Gram negativo, los fitoplasmas son bacterias que carecen de pared celular, pero al igual que los liberibacters, se encuentran sólo en el floema. El primer "fitoplasma-HLB" se descubrió en el norte de SPS en Brasil en 2007, en naranjos con síntomas típicos de HLB, pero al analizarlos daban resultados negativos para liberibacters. El fitoplasma del HLB se identificó como un 16Sr grupo "IX" fitoplasma (Texeira y col., 2008). El HLB grupo IX fitoplasmas se ha detectado también en *Crotalaria juncea*, una planta utilizada como cubierta vegetal muy común en SPS (Wulff y col., 2009, 2015). Se ha demostrado que *Scaphytopius marginelineatus*, un cicadélido que se encuentra con frecuencia en campos de naranjos, adquiere con eficacia el fitoplasma-HLB de las plantas de *Crotalaria juncea* y lo transmite aunque raramente a los naranjos (Wulff y col., 2015). Un 16Sr grupo "I" fitoplasma asociado con síntomas de HLB ha sido también identificado en China (Chen, 2009). Hasta el momento, en comparación con los liberibacters, los fitoplasmas tienen poca importancia.

Tipos de HLB y temperatura

En África, la psila africana, *T. erytrae*, es la que transmite Laf. Por tanto "HLB africano" significa que el liberibacter es Laf y la psila que actúa como vector es *T. erytrae*. En Asia, el liberibacter es Las y la psila que actúa como vector es *D. citri*. Por tanto "HLB asiático" significa "Las y *D. citri*". En América, el HLB es del tipo asiático, con Las y la psila *D. citri*. En SPS de Brasil, tanto Las como Lam se transmiten mediante *D. citri*.

La diferencia entre el HLB africano y el asiático es importante pues tienen comportamientos distintos en relación con la temperatura. El HLB africano es sensible al calor (temperaturas de 32°C o superiores), una característica que comparten Laf y *T. erytrae*, mientras que el HLB asiático es tolerante al calor (temperaturas de hasta 38°C), una característica de ambos Las y *D. citri*. Como consecuencia de ello, el HLB africano y el HLB asiático tienen distinta distribución geográfica (Bové, 2014). En África y en las islas cercanas del océano Índico, el HLB se encuentra sobretodo por encima del nivel del mar, a altitudes lo suficientemente elevadas para que se de un clima relativamente fresco. En el norte de Sudáfrica, el HLB se encuentra solamente por encima de los 600 m; Etiopía, un país cercano al ecuador y con un clima mas cálido que el de Sudáfrica, el HLB se encuentra solo por encima de los 1200 m. El HLB asiático soporta temperaturas mas elevadas que el HLB africano por lo que se da en el caso de la isla de Reunión. En esta isla del océano Índico, al este de Madagascar, se encuentran ambos HLBs, el africano y el asiático, con el HLB asiático y *D. citri* desde el nivel del mar hasta aproximadamente 600 m, mientras que el HLB africano con *T. erytrae* se encuentra por encima de los 600 m. La única región de África en la que se encuentra el HLB africano a nivel del mar es la provincia de Cabo Oeste en el sur de Sudáfrica: allí, la elevada latitud se ve compensada por la baja altitud. Como ya se ha indicado, en Brasil se identificaron dos liberibacters, Lam y Las, con Lam presente en mas del 95% de los árboles afectados por HLB. En 2015, este porcentaje ha cambiado significativamente: Las es ahora predominante con solo un pequeño porcentaje de árboles infectados con Lam. ¡La situación, puede que hoy día esté también relacionada con el calor! Lam al igual que Laf es sensible al calor, mientras que Las es tolerante y soporta el calor mucho mejor que Lam: por ejemplo a 32°C, el título de Lam en naranjo dulce es mucho mas bajo que el de Las; como consecuencia, la psila adquiere y transmite

con mayor frecuencia Las, que se encuentra a concentraciones mas elevadas que Lam, sobretodo a temperaturas de 32°C o superiores (Lopes y col., 2009a; 2009b).

Aunque el HLB africano y sobretodo el HLB asiático se encuentran muy difundidos en el planeta, no son los únicos tipos de HLB que pueden darse. De hecho, se demostró experimentalmente que la psila *T. erytrae* podía transmitir no sólo Laf sino también Las (Massoní y col., 1976). Por tanto puede darse un tipo de HLB con Las como patógeno y *T. erytrae* como su vector. Este tipo de HLB "*T. erytrae*/Las" podría estarse dando de forma natural en Etiopía, un país africano afectado por el HLB africano, y en el que la psila africana fue ya identificada en 1918. En 2010, se encontraron por primera vez en África, árboles infectados con Las, precisamente en el norte de Etiopía (Saponari y col., 2010). En 2014 se encontraron árboles infectados por Las mucho mas al sur, lejos del foco inicial (Hennie le Roux, comunicación personal). Sin embargo, hasta el momento no se ha encontrado la psila asiática *D. citri*. Por tanto puede darse la situación de que sea la psila africana, presente en Etiopía desde hace muchos años, la responsable de la difusión de Las. ¡Este tipo de HLB "*T. erytrae*/Las" podría denominarse "HLB etíope"! También, se ha demostrado que la psila asiática *D. citri* que normalmente transmite Las en Asia, puede también transmitir experimentalmente Las (Lallemand y col., 1986). Por tanto, podría darse también el tipo de HLB "*D. citri*/Laf", pero no se ha encontrado de forma natural.

¿El HLB en Algarve?

Segun un artículo de un periódico del 12 de noviembre de 2015, al que ha seguido una "Nota informativa" del Ministerio de Agricultura de Portugal del 2 de diciembre de 2015, se habían observado síntomas sospechosos en un campo de naranjos en la zona de Silves en Algarve; además se habían realizado muestreos para realizar los correspondientes análisis en los laboratorios del Instituto Nacional de Investigación Agraria y Veterinaria (INIAV).

Solamente la muestra de uno de los árboles condujo a la identificación de Las, pero a una concentración muy baja. Se están realizando investigaciones para definir mejor la situación. Para una identificación fiable de los liberibacters, es necesario disponer de muestras positivas para ser utilizadas como controles, y para alcanzar una sensibilidad elevada, deben utilizarse los métodos mas sensibles, como la PCR a tiempo real y la

secuenciación del correspondiente amplicón para su confirmación (Bertolini y col., 2014; Carralero y col., 2015; López y col., 2015).

Como se indica en la "Nota informativa", dado el peligro que supone Las, todos los árboles del campo en el que se identificó el liberibacter, han sido destruidos. Es de esperar que existan datos acerca del porcentaje de árboles sospechosos. También es de esperar que exista información sobre la localización de estos árboles sospechosos en un mapa de la(s) parcela(s), ya que de la distribución de dichos árboles puede ser una información de interés. Además, la propagación de material vegetal del árbol que dió positivo para Las proporcionaría material de interés para la investigación.

Aparentemente, no se ha detectado ninguna psila como posible vector. Sin embargo, tal como ya se ha indicado, hay que tener en cuenta que Las puede transmitirse no sólo por *D. citri* sino también por *T. erytrae*. En el caso de que ninguno de los vectores se encuentre presente, y de que efectivamente HLB esté en Silves, ello indicaría que el HLB se introdujo con material vegetal infectado procedente del extranjero, y por tanto debería procederse a identificar el origen de dicho material.

Por tanto en lo que se refiere al caso del HLB en Algarve, hay que felicitar a los responsables de su identificación por haberse dado cuenta de la existencia de árboles sospechosos y por haber tomado los pasos necesarios para la identificación de liberibacters. Incluso en caso de que no se confirme la presencia de Las y el HLB en Algarve resulte ser una falsa alarma (lo cual debe confirmarse), es mejor haber dedicado tiempo y esfuerzos a una falsa alarma que haber obviado un caso de HLB real por no haber identificado los síntomas sospechosos. En caso de que HLB se encuentre presente en Algarve, hay que preguntarse si podrá controlarse mediante un manejo adecuado del cultivo.

Manejo del HLB en SPS (Brasil)

En SPS (Brasil), donde al manejo del HLB se ha llevado a cabo con éxito (Bové, 2012), los primeros síntomas se observaron en plantaciones comerciales en marzo de 2004, la identificación de liberibacters mediante PCR estuvo disponible en mayo de 2004 y el programa de erradicación del HLB se inició en julio de 2004. El sistema de manejo se basó en un enfoque triple (three-pronged system, TPS): (i) tratamientos insecticidas de todos los árboles de la explotación varias veces al año con el fin de disminuir drásticamente la población de psilas; (ii) inspecciones de todos

FACTORES	MÁS FÁCIL	MÁS DIFÍCIL
1. Tamaño de la explotación	Grande: ≥ 400 ha	Pequeña: ≤ 400 ha
2. Forma de la explotación	Cuadrada	Rectángulo alargado
3. Edad de los árboles	Árboles adultos	Árboles jóvenes
4. Explotación en una zona con una incidencia de HLB baja o elevada	Baja: $\leq 2\%$	Elevada: $\geq 15\%$
5. Presencia de explotaciones sin manejo del HLB	Lejos	Cerca
6. % de árboles con HLB en la 1ª inspección de la explotación	Bajo: $\leq 1\%$	Alto: $\geq 10\%$
7. Momento de la 1ª inspección después de la infección	Pronto	Tarde
8. Número de inspecciones con plataformas	12 por año	4 por año
9. Número de tratamientos insecticidas	24 por año	6 por año
10. Elevada densidad de árboles en los bordes de la explotación	Si	No
11. Tratamientos insecticidas adicionales en los bordes de la explotación	Si	No
CONTROL DE CALIDAD	EXCELENTE	POBRE

Tabla 1. Factores que facilitan o dificultan el control del HLB en el estado de São Paulo (SPS).

los árboles de la explotación varias veces al año con el objetivo de identificar árboles con síntomas y arrancarlos al cabo de una semana como máximo; (iii) reemplazar los árboles arrancados por árboles sanos obtenidos bajo cubierta en viveros libres de insectos. A lo largo de los años se ha ganado experiencia en el manejo del HLB lo cual ha permitido identificar aquellos factores que facilitan el éxito así como aquellos que lo dificultan (Belasque y col., 2010). Estos factores se hallan resumidos en la Tabla 1.

Los primeros cuatro factores de la Tabla 1, son características de la explotación y no pueden modificarse: tamaño y forma de las parcelas, edad de los árboles y localización de la explotación, ya sea en una zona de baja o elevada incidencia de HLB; solamente los otros factores (del 5 al 11) pueden modificarse para llevar a cabo el manejo del HLB.

Una de las mayores dificultades para el manejo del HLB en SPS ha sido la existencia de plantaciones en las que no se efectuaba el manejo del HLB (explotaciones "malas") cerca de explotaciones con un buen manejo (explotaciones "buenas"), ya que las psilas de las explotaciones malas se desplazaban hacia los árboles sanos de las explotaciones buenas, infectándolos. Este problema se solucionó cuando las explotaciones buenas llegaron a acuerdos con las explotaciones malas, de las que obtuvieron permiso para realizar tratamientos insecticidas contra las psilas en las explotaciones malas, al mismo tiempo que trataban las propias explotaciones. Es interesante mencionar que había muchos más árboles infectados (y arrancados) en los bordes de la explotación

que en el interior (efecto borde). Esto conllevó dos aproximaciones beneficiosas para las explotaciones grandes: alta densidad de árboles en los bordes de la explotación y tratamientos insecticidas adicionales en dichos bordes.

En todas las plantaciones grandes se ha implementado el manejo del HLB mediante el TPS lo que ha dado como resultado 200.000 hectáreas de cítricos con solamente ~1% de árboles afectados de HLB, o sea ~99% de árboles sanos. Debido a estas condiciones favorables, SPS es la única zona del mundo en la que el control del HLB se está realizando con éxito (Bové, 2012).

Manejo del HLB en Europa y la cuenca del Mediterráneo

Varios de los factores que hacen que el manejo del HLB mediante el TPS tenga éxito, no son compartidos por la mayoría de explotaciones de Europa y de la cuenca de Mediterráneo, ni siquiera por países cítricos como España y Portugal. En general, las explotaciones de la península Ibérica son pequeñas y tienen todo tipo de formas en comparación con las de Brasil. Por tanto existe el temor de que el manejo del HLB mediante el sistema TPS no pueda alcanzar el éxito esperado, a no ser que se conformen áreas de manejo (Citrus Health Management Areas, CHMAs). Una CHMA estaría formada por varias explotaciones adyacentes, por ejemplo ~10 explotaciones de ~50 ha, lo que representaría un total de ~500 ha, de forma que se realizarían las labores de manejo como si se tratara de bloques individuales de una explotación grande, y por tanto dicho mane-

jo se realizaría de forma conjunta. En una zona determinada, deben organizarse tantas CHMAs como sea posible. Ninguna CHMA debe contener explotaciones en estado de abandono donde no se efectúe el manejo del HLB. En Florida, las CHMAs han realizado tratamientos insecticidas para controlar las psilas, pero sin eliminar los árboles con síntomas. Estas CHMAs han fracasado en el control del HLB porque tanto el control de las psilas como la eliminación de árboles con síntomas son indispensables para conseguir el control del HLB.

También en Florida, se han utilizado aerosoles foliares y tratamientos insecticidas para "convivir" con el HLB. Los aerosoles foliares contienen micronutrientes como nitrato potásico, fosfito y/o ácido salicílico. El porcentaje de árboles infectados con HLB en parcelas sometidas a estos tratamientos es muy elevado si no del 100%. En Brasil, ninguno de estos aerosoles foliares (8 tratamientos distintos) aportó ningún beneficio en lo que se refiere a la cosecha de árboles normales o árboles afectados de HLB: En todos los casos/tratamientos, después de uno, dos o tres años, la cosecha de los árboles afectados de HLB disminuyó, en un 15, 43 y 62%, respectivamente, en comparación con la cosecha de los árboles sanos. Además, la severidad del HLB en los árboles afectados se incrementó de un 15% hasta más del 50% en los tres años que duró el ensayo. En las parcelas con tratamientos fuertes para controlar las psilas, el porcentaje de árboles afectados de HLB aumentó del 2% al 10% mientras que en el caso de parcelas sin ningún control del psilas aumentó del 2% al 23%.

Si, en la península Ibérica, el control del HLB fracasa, la supervivencia de la industria cítrica dependerá de la disponibilidad de nuevos cultivares: (i) que sean resistentes a los liberibacters causantes del HLB; (ii) que repelan a las psilas, o (iii) que sean letales para las psilas. Dichos cultivares deberán obtenerse por modificación genética, ya que hasta el momento, no se ha encontrado dentro de las *Rutaceae*, ninguna fuente natural de resistencia. En 2015, dichos tipos de cultivares se encuentran ya en fase de experimentación en campo pero no estarán disponibles a nivel comercial antes de diez años.

Ponencia impartida en el Coloquio de AESaVe que se celebró en el marco del IX Congreso Nacional de Ento-

BIBLIOGRAFÍA

- Belasque, J., Bassanezi Jr, R.B., Yamamoto, P.T., Ayres, A.J., Tachibana, A., Violante, A.R., Tank Jr. A., Di Giorgi, F., Tersi, F.E.A., Menezes, G.M., Dragone, J., Jank Jr. R.H. y Bové, J.M. 2010. Lessons from huanglongbing management in Sao Paulo State, Brazil. *Journal of Plant Pathology* 92:285-302.
- Bertolini, E., Felipe, R., Sauer, A.V., Lopes, S., Arilla, A., Vidal, E., Mourao-Filho, F.A.A., Nunes, W.M.C., Bové, J.M., López, M.M. y Caambra, M. 2014. Tissue-print and squash real-time PCR for direct detection of *Candidatus Liberibacter* spp. in citrus plants and insect vectors. *Plant Pathology* 63:1149-1158.
- Bové, J.M. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology* 88: 7-37.
- Bové, J.M. 2012. Huanglongbing and the future of citrus in Sao Paulo State, Brazil. *Journal of Plant Pathology* 94:465-467.
- Bové, J.M. 2014. Heat tolerant Asian HLB meets heat-sensitive African HLB in the Arabian Peninsula! Why? *Journal of Citrus Pathology* 1:1-78.
- Bové, J.M. 2015. En lo que respecta a los cítricos del área mediterránea, el HLB es actualmente la enfermedad con mayor capacidad destructiva. *Phytoma* 270:16-19.
- Bové, J.M., López, M.M. y Duran-Vila, N. 2006. Evitar el huanglongbing (HLB), un reto para la supervivencia de la citricultura española. *Levante Agrícola* 383:385-390.
- Carralero, A., Crespo, A., Plomer, M., Cervera, M. y Albiach, M.R. 2015. Diagnóstico precoz y rápido de LB: una técnica clave para el futuro de la citricultura española. *Phytoma* 270:69-70.
- Catling, H.D. 1969. The binomics of the South African citrus psylla, *Trioza erythrae* (Del Guercio) (Homoptera: Psyllidae). III. The influence of extremes of weather on survival. *Journal of Entomology Society South Africa* 32:272-290.
- Chen, J., Pu, X., Deng, X., Liu, S., Li, H. Y Civerolo, E. 2009. A phytoplasma related to "*Candidatus Phytoplasma asteris*" detected in citrus showing huanglongbing symptoms in Guangdong, P. R. China. *Phytopathology* 99:236-242.
- Duran-Vila, N., López, M.M. y Bové, J.M. 2009. ¡Estado de alerta! El Huanglongbing es la enfermedad mas devastadora de los cítricos. *Levante Agrícola* 398:348-355.
- Duran-Vila, N. y Bové, J.M. 2013. Huanglongbing es la enfermedad mas devastadora de los cítricos. *Levante Agrícola* 419: 340-344.
- Duran-Vila, N. y Bové, J.M. 2015. «Will Huanglongbing destroy Mediterranean citrus?»: Conferencia impartida el 21 de Octubre, 2015, en el Hotel SH Valencia Palace (Paseo Alameda, 32, Valencia) como parte del Coloquio titulado "*El sector citrícola mediterráneo en riesgo: llega a Europa Trioza erythrae, el insecto vector de la bacteria causante del Huanglongbing (Greening) de los cítricos*" organizado por la Asociación Española de Sanidad Vegetal como parte del IX Congreso Nacional de Entomología Aplicada y las XV Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Entomología Aplicada (SEEA).
- Duran-Vila, N. y Bové, J.M. 2015b. Citrus HLB is an emerging disease transmitted by psyllid vectors. Can it be prevented? If not, can it be managed? CIHEAM Watch Letter nº 33.
- Duran-Vila, N., Janse, J.D., Foissac, X., Melgarejo, P. y Bové, J.M. 2014. Addressing the threat of huanglongbing in the Mediterranean region: A challenge to save the citrus industry. *Journal of Plant Pathology* 95 (4, Supplement), S4.3-S4.8
- García Marí, F. 2015. Los psílidos vectores del HLB, *Trioza erythrae* y *Diaphorina citri*. *Phytoma* 270:26-30.
- Jagoueix, S., Bové, J.M. y Garnier, M. 1994. The phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the alpha subdivision of the *Proteobacteria*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 44:370-386.
- Lallemant, J., Fos, A. y Bové, J.M. 1986. Transmission e la bacterie associée à la forme africaine de la maladie du "greening" par le psylle asiatique *Diaphorina citri* Kuwayama. *Fruits* 41:341-343.
- Lopes, S.A., Bertolini, E., Frare, G.F., Martins, E.C., Wulff, N.A., Teixeira, D.C., Fernandes, N.G. y Cambra, M. 2009a. Graft transmission efficiencies and multiplication of "*Candidatus Liberibacter americanus*" and "*Ca. Liberibacter asiaticus*" in citrus plants. *Phytopathology* 99:301-306.
- Lopes, S.A., Frare, G., Bertolini, E., Cambra, M., Fernandes, N., Ayres, A., Marin, D. y Bové, J.M. 2009b. Liberibacters associated with Citrus Huanglongbing in Brazil: "*Candidatus Liberibacter asiaticus*" is heat tolerant, "*Ca. L. americanus*" is heat sensitive. *Plant Disease* 93:257-262.
- López, M.M., Marcos-Noales, E., y Bertolini, E. 2015. Aumenta el riesgo de huanglongbing, causado por '*Candidatus Liberibacter*' spp., que supone la mayor amenaza actual para la citricultura española. *Phytoma* 270:32-34.
- Massoné, G., Garnier, M. y Bové J.M. 1976. Transmission of Indian citrus decline by *Trioza erythrae* (Del Guercio), the vector of South African greening. *Proceedings of the 7th IOCV Conference. University of California, Riverside* pages 18-20.
- Pérez-Otero, P., Mansilla, J.P., y del Estal, P. 2015. Detección de la psila africana de los cítricos, *Trioza erythrae* (Del Guercio, 1918) (Hemiptera: Psylloidea: Triozidae), en la Península Ibérica. *Archivos Entomológicos*, 13:119-122.
- Saponari, M., De Bac, G., Breithapt, J., Loconsole, G., Yokomi, R.K. y Catalano, L. 2010. First report of *Candidatus Liberibacter asiaticus* associated with huahlongbing in sweet orange in Ethiopia. *Plant Disease* 94:482.
- Teixeira, D.C., Saillard, C., Eveillard, S., Danet, J.L., Ayres, A.J. y Bové, J.M. 2005. "*Candidatus Liberibacter americanus*" sp. Nov., associated with citrus huanglongbing (greening disease) in Sao Paulo State, Brazil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55:1857-1862.
- Teixeira, D.C., Wulff, N.A., Martins, E.C., Kitajima, E.W., Bassanezi, R., Ayres, A.J., Eveillard, S., Saillard, C. y Bové, J.M. 2008. A phytoplasma closely related to the Pigeon pea witches'broom phytoplasma (16Sr IX) is associated with citrus huanglongbing symptoms in the State of Sao Paulo, Brazil. *Phytopathology* 98:977-984.
- Van der Merwe, C.P. 1941. The citrus psylla (*Spanioza erythrae* del G.). *Science Bulletin Department of Agriculture for Union South Africa*. 233:1-12.
- Wulff, N.A., Teixeira, D.C., Martins, E.C., Leite, A.P.R., Mariano, A.G., Da Silva, A.C.B., Augusto, M.L.V., Ayres, A.J. y Bové, J.M. 2009. The 16Sr group IX phytoplasma associated with citrus huanglongbing symptoms in Sao Paulo state, Brazil, has been detected in croton plants (*Crotalaria juncea*). *Congreso Brasileiro de Fitopatologia. Resumos, Rio Janeiro. Tropical Plant Pathology* 115.
- Wulff, N.A., Teixeira, D.C., Martins, E.C., Toloy, R.S., Bianco, L.F., Colletti, D.A.B. Kitajima, E.W. y Bové, J.M. 2015. Sunn hemp, a major source-plant of the phytoplasma associated with huanglongbing symptoms of sweet orange in Sao Paulo State, Brazil. *Journal of Citrus Pathology* 2:1-14.